

OECD/OCDE

458

Annex B. Information relevant to the three test methods.

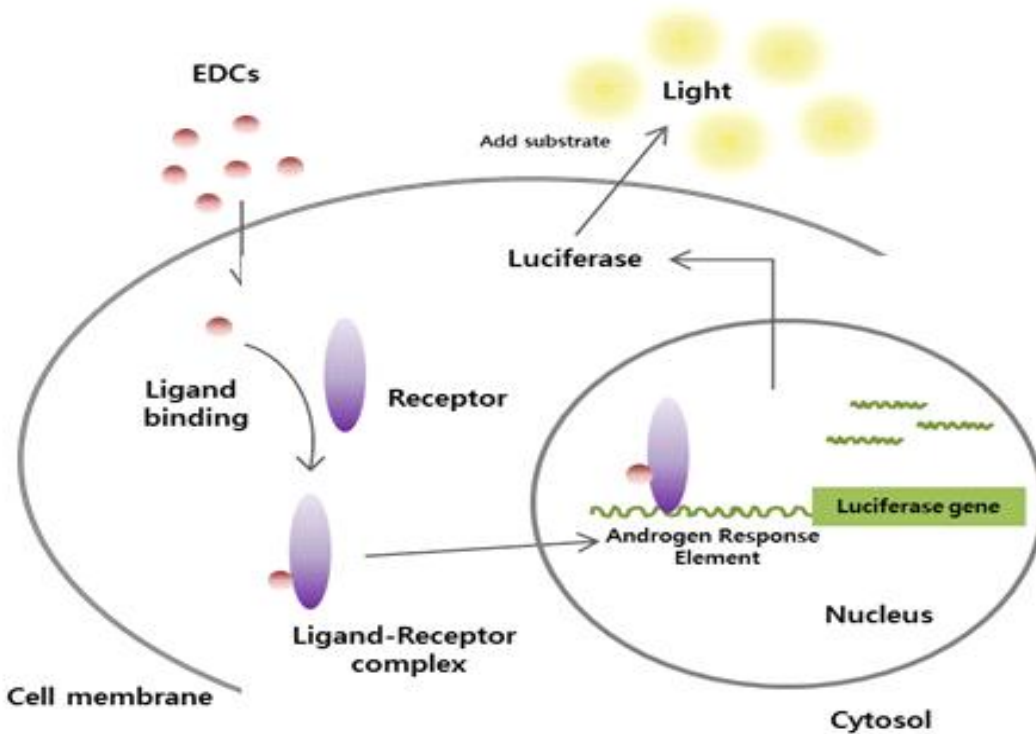
Overview tables and list of proficiency chemicals

Table B.1. Overview of the characteristics of the 3 test methods in this TG

Test method name	AR-EcoScreen™	AR-CALUX®	22Rv1/MMTV GR-KO
Developer	Otsuka Pharmaceuticals Co., Ltd., CERl and NIHS	BDS	MFDS, Korea Univ. and Dongguk Univ.
Cell line	AR-EcoScreen™	AR-CALUX®	22Rv1/MMTV_GR-KO
Cell type	Chinese hamster ovarian cancer cell	Human osteo-sarcoma cell	Human prostate carcinoma epithelial cell
Genetic modification	<ul style="list-style-type: none"> Human AR cDNA heat shock protein promoter -4 C3 ARE-firefly luc (<i>Photinus pyralis</i>) SV40 promoter-renilla luc (<i>Renilla reniformis</i>) (for simultaneous measurement of cytotoxicity) 	<ul style="list-style-type: none"> Human AR cDNA TATA promoter -3xARE -firefly luc (<i>Photinus pyralis</i>) 	<ul style="list-style-type: none"> Endogenous AR MMTV LTR promoter containing ARE- firefly luc (<i>Photinus pyralis</i>) Knocked out GR by CRISPR-Cas9
Special feature	<ul style="list-style-type: none"> Minimal GR crosstalk due to the selection of an appropriate androgen responsive element High throughput applicability 	<ul style="list-style-type: none"> No or little GR, ER and PR expression High throughput applicability 	<ul style="list-style-type: none"> No ER and PR expression GR knock-out

□ 개발원리

- 세포주의 안드로겐 수용체와 화학물질 간에 어느 정도 결합하는지를 판정하기 위한 시험법
- 안드로겐 수용체/화학물질 결합체와 특이적으로 반응하는 유전자(Androgen Response Element)에 결합력의 정량적 평가를 위한 발광 유전자(Luciferase gene)를 붙인 융합체를 세포주내로 삽입시킨 세포주를 이용



□ 시험원리

- 1) 환경호르몬(Endocrine Disrupting Chemicals, EDCs)의 경우 세포주내 존재하는 안드로겐 수용체와 결합
- 2) 안드로겐 수용체와의 결합체는 핵 안으로 이동하게 되며, 삽입된 안드로겐 반응인자(Androgen Response Element)와 결합하게 됨
- 3) 안드로겐 반응인자(Androgen Response Element)와의 결합 후, 전사(transcription) 과정을 거쳐 단백질을 생성하게 되며, 이 과정을 통해 안드로겐 반응인자에 붙여있던 luciferase gene이 luciferase 단백질을 생성하게 됨
- 4) 처리된 화학물질의 결합력이 강할수록 생성된 luciferase 단백질의 양이 많기 때문에 발광수치 측정 시 처리물질의 결합력에 따라 차이를 나타내게 됨